

Przemysław Miarka<sup>1</sup>, Małgorzata Waluś-Miarka<sup>2</sup>, Danuta Fedak<sup>3</sup>, Katarzyna Janda<sup>1</sup>, Eve Chowaniec<sup>1</sup>, Marcin Krzanowski<sup>1</sup>, Barbara Idzior-Waluś<sup>2</sup>, Władysław Sułowicz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Katedra i Klinika Nefrologii Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie

<sup>2</sup>Katedra i Klinika Chorób Metabolicznych Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie

<sup>3</sup>Zakład Diagnostyki Katedry Biochemii Klinicznej Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie

# Ocena wpływu wybranych czynników wzrostowych i zapalnych na rozwój nefropatii u chorych na cukrzycę typu 2

Influence of growth and inflammatory factors on the development of nephropathy in patients with diabetes mellitus type 2

## STRESZCZENIE

**WSTĘP.** W ostatnio opublikowanych badaniach wykazano istotną rolę czynników wzrostowych i cytokin prozapalnych w rozwoju nefropatii cukrzycowej. Celem pracy była ocena wpływu wybranych czynników wzrostowych i markerów stanu zapalnego na rozwój zmian w nerkach u pacjentów z nefropatią cukrzycową.

**MATERIAŁ I METODY.** Badaniami objęto 50 chorych z nefropatią w przebiegu cukrzycy typu 2, w tym 25 poddano obserwacji prospektywnej trwającej 36 miesięcy. U wszystkich pacjentów oznaczono stężenie czynników zapalnych i wzrostowych we krwi oraz parametry wydolności nerek.

**WYNIKI.** Chorzy z nefropatią cukrzycową charakteryzowali się istotnie wyższym stężeniem fibrynogenu, hsCRP, IL-6 i sTNF-RII w porównaniu z wartościami referencyjnymi. W badaniu wyjściowym stwierdzono, że podwyższone stężenia IL-6 i sTNF-RII wiązały się ze spadkiem wartości GFR ( $r = -0,3$ ;  $p = 0,01$  oraz  $r = -0,7$ ;  $p < 0,0001$ ). Po 36 miesiącach obserwacji wykazano związek stężenia hsCRP, sTNF-RII

z albuminurią ( $r = 0,5$ ;  $p = 0,008$  i  $r = 0,5$ ;  $p = 0,02$ ) oraz VEGF z wartością GFR ( $r = -0,4$ ;  $p = 0,03$ ).

**WNIOSKI.** W niniejszej pracy wykazano, że u chorych z nefropatią cukrzycową, w stosunku do wartości referencyjnych, występują istotnie wyższe stężenia markerów zapalnych. W badaniu prospektywnym wzrost wartości stężeń markerów zapalnych wiązał się z progresją nefropatii — obniżeniem GFR i wzrostem albuminurii. (Diabet. Prakt. 2010; 11, 4: 118–124)

**Słowa kluczowe:** cukrzyca typu 2, nefropatia cukrzycowa, czynniki wzrostowe, cytokiny prozapalne

## ABSTRACT

**BACKGROUND.** Presently published research points to an essential role of growth and pro-inflammatory cytokines in the development of diabetic nephropathy. The aim of the study was to evaluate influence of certain growth factors and inflammatory markers on the progression of kidney changes in patients with diabetic nephropathy.

**MATERIAL AND METHODS.** Material included 50 patients with diabetic nephropathy, 25 out of them re-evaluated after 36 months. Inflammatory and growth factors were measured along with renal parameters in all patients.

**RESULTS.** Patients with diabetic nephropathy were characterized with significantly higher values of fibrinogen, hsCRP, IL-6 and sTNF-RII in comparison

Adres do korespondencji:

dr n. med. Przemysław Miarka

Katedra i Klinika Nefrologii CM UJ

ul. Kopernika 15c, 31-501 Kraków

tel.: (12) 424 78 00

Diabetologia Praktyczna 2010, tom 11, 4, 118–124

Copyright © 2010 Via Medica

Nadesłano: 06.09.2010

Przyjęto do druku: 23.09.2010

to reference values. In the initial examination, increased concentrations of IL-6 and sTNF-RII were associated with decreased values of GFR ( $r = -0.3$ ;  $p = 0.01$ , as well as  $r = -0.7$ ;  $p < 0.0001$ ). After 36 months of observation — an association was found between concentrations of hsCRP, sTNF-RII and albuminuria ( $r = 0.5$ ;  $p = 0.008$  and  $r = 0.5$ ;  $p = 0.02$ ); as well as between VEGF and GFR values ( $r = -0.4$ ;  $p = 0.03$ ).

**CONCLUSIONS.** Research showed that patients with diabetic nephropathy in comparison to reference values had significantly higher concentrations of inflammatory markers. In the prospective examination — changes of inflammatory markers were associated with progression of nephropathy (decrease of GFR and increase of albuminuria). (Diabet. Prakt. 2010; 11, 4: 118–124)

**Key words:** type 2 diabetes mellitus, diabetic nephropathy, growth and pro-inflammatory cytokines

## Wstęp

### Epidemiologia oraz czynniki ryzyka rozwoju nefropatii cukrzycowej

W ostatnich latach obserwuje się znaczny wzrost chorobowości i zachorowalności na cukrzycę. W Polsce szacunkowo problem cukrzycy dotknął około 5,6% dorosłej populacji [1], z tego około 90% stanowią chorzy na cukrzycę typu 2. Przewlekłe powikłania cukrzycy w postaci mikroangiopatii i makroangiopatii są główną przyczyną inwalidztwa, niezdolności do pracy oraz pogorszenia jakości życia i zgonów pacjentów z cukrzycą, stąd ważne jest wykrycie czynników sprzyjających zapoczątkowaniu i progresji zmian naczyniowych. Zdiagnozowanie wczesnych stadiów nefropatii cukrzycowej — przy właściwym postępowaniu leczniczym — stwarza szansę na zwolnienie lub powstrzymanie jej przebiegu, a nawet na cofnięcie zmian. Obecnie pacjenci z nefropatią cukrzycową stanowią około 22,1% wszystkich dializowanych osób w Polsce. Nefropatia cukrzycowa jest najczęstszą przyczyną schyłkowej niewydolności nerek u pacjentów nowo włączanych do długotrwałych dializ (25,3%) [2]. Rozwój nefropatii cukrzycowej zależy od czasu trwania cukrzycy, wyrównania glikemii, występowania hiperlipidemii, wartości ciśnienia tętniczego i czynników genetycznych. Za kluczowe determinanty uszkodzenia tkanek w cukrzycy są uznawane hiperglikemia i czas trwania cukrzycy. Wpływ działania obu tych

czynników jest addytywny, stąd najczęstsze i najbardziej znaczące uszkodzenia występują u osób z długim czasem trwania źle kontrolowanej cukrzycy [3–5]. W ciągu ostatnich kilku lat znacznie się poszerzyła wiedza na temat przebiegu klinicznego nefropatii cukrzycowej i czynników, które wpływają na progresję uszkodzenia nerek; mimo to czynniki prowadzące do uszkodzenia nerek u osób z przewlekłą hiperglikemią nie są do końca poznane. Wyniki ostatnich badań wykazały, że stan zapalny, a zwłaszcza udział cytokin prozapalnych, odgrywa znaczną rolę w rozwoju powikłań mikroangiopatycznych cukrzycy.

### Cytokiny prozapalne a zmiany w nefropatii cukrzycowej

W nerkach pacjentów z nefropatią wykazano wyższą ekspresję czynnika transformującego beta (TGF-beta, *transforming growth factor beta*), w porównaniu z osobami bez nefropatii [6]. Obserwowano również zwiększoną ekspresję receptora typu II dla TGF-beta, co może wskazywać na nadmierną odpowiedź nerki cukrzycowej na TGF-beta 1. Czynnik TGF-beta 1 powoduje odkładanie macierzy mezzangium, zgrubienie błony podstawnej kłębuszka oraz może sprzyjać apoptozie i odwarstwianiu się podocytów. W wyniku tych procesów błona podstawna kłębuszka pozbawiona podocytów przylega do torebki Bowmana i rozpoczyna się proces stwardnienia kłębuszków [7, 8].

Czynnik wzrostowy pochodzący z płytek (PDGF, *platelet-derived growth factor*) działa jako czynnik wzrostowy dla komórek śródbłonna siatkówki poprzez mechanizmy para- i autokryne. Wysokie stężenie glukozy wiąże się ze zwiększoną ekspresją PDGF w perycytach i siatkówce zwierząt doświadczalnych oraz z podwyższoną ekspresją receptora beta PDGF [9].

U chorych na cukrzycę występuje zwiększenie ekspresji VEGF (*vascular endothelial growth factor*) i receptorów dla VEGF w nerkach, co potwierdzają także badania u zwierząt doświadczalnych z cukrzycą indukowaną streptozotocyną. Leczenie przeciwciałami skierowanymi przeciwko VEGF lub jego receptorom zapobiega rozwojowi zmian cukrzycowych w nerkach u zwierząt doświadczalnych. Czynnik VEGF jest produkowany przez podocyty i działa na nie w sposób autokryny, modulując ich funkcję, łącznie ze stymulacją syntezy składowych błony podstawnej, przyczyniając się do nieprawidłowej stymulacji komórek, które produkują więcej TGF-beta 1 [10, 11].

Celem niniejszej pracy była ocena stężenia czynników wzrostowych, takich jak: TGF-beta, PDGF, VEGF, cytokin prozapalnych — interleukiny 6, receptora TNF-alfa, a także białek ostrej fazy fibrynogenu

Tabela 1. Charakterystyka badanej grupy chorych

	Chorzy z nefropatią cukrzycową	Chorzy z nefropatią po 36 miesiącach obserwacji
Liczba chorych	50	25
Kobiety/mężczyźni	23/27	14/11
Wiek (lata)	64,6 ± 12,3	64,8 ± 13,2
Czas trwania cukrzycy (lata)	13,5 ± 4,7	14,2 ± 4,2
Insulina/leki doustne	25/25	25/0
Inhibitory ACE/ARB	41/6	22/1
Statyny	44	23

i hsCRP u chorych z nefropatią cukrzycową oraz ocena związku stężeń tych parametrów ze stopniem zaawansowania nefropatii w przebiegu cukrzycy typu 2. Ponowną kontrolę wybranych parametrów przeprowadzono w badanej grupie chorych po 36 miesiącach intensywnego leczenia nefroprotektoryjnego.

### Materiał i metody

Do badania zakwalifikowano 50 kolejnych chorych na cukrzycę typu 2 rozpoznawaną według kryteriów Światowej Organizacji Zdrowia (WHO, *World Health Organization*), u których stwierdzono nefropatię cukrzycową w różnym stopniu zaawansowania według klasyfikacji Mogensena. Pacjenci ci byli objęci kontrolą lekarską w Poradni przy Klinice Nefrologii Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie. U pacjentów z nefropatią cukrzycową, którzy mogli uczestniczyć w badaniu, po 36 miesiącach wykonano badanie kontrolne. U wszystkich badanych wykonano następujące badanie kliniczne i biochemiczne:

- podmiotowe i przedmiotowe badanie lekarskie;
- pomiary wzrostu, masy ciała, obwodu pasa i bioder, pomiar ciśnienia tętniczego;
- pomiar HbA<sub>1c</sub> (ocena stopnia wyrównania glikemii);
- oznaczenie stężenia w surowicy: mocznika, kreatyniny, kwasu moczowego;
- oznaczenie mikroalbuminurii w dobowej zbiórce moczu;
- wyznaczenie wskaźnika przesączania kłębuszkowego (GFR, *glomerular filtration rate*) na podstawie wzoru MDRD;
- oznaczenie stężenia czynników wzrostu i cytokin prozapalnych w surowicy krwi: TGF-beta 1, PDGF, VEGF, IL-6, hs CRP, fibrynogenu oraz rozpuszczalnego receptora II dla TNF-alfa (s TNF-alfa R II).

U chorych zastosowano leczenie nefroprotektoryjne obejmujące leki hipotensyjne (inhibitory ACE/ARB) oraz leki hipolipemizujące — statyny, zgodnie z obowiązującymi standardami. Charakterystykę pacjentów i grupy kontrolnej przedstawiono w tabeli 1.

Standardowe badania biochemiczne wykonywano w dniu pobrania krwi, natomiast surowicę i osocze EDTA do oznaczeń immunochemicznych przechowywano w temperaturze –70° C, do czasu wykonania wszystkich oznaczeń.

Stężenia IL-6, TGF-beta 1, VEGF zmierzono za pomocą testów immunoenzymatycznych metodą ELISA (przy użyciu zestawu firmy Diacclone SAS Besancon, Francja), a odczyt przeprowadzono za pomocą czytnika ELx 800 firmy BIO-TEK Instruments Inc. Stężenia s-TNF RII, PDGF-BB zmierzono za pomocą testów immunoenzymatycznych metodą ELISA (przy użyciu zestawu Quantikine firmy R&D Systems, Minneapolis MN, Stany Zjednoczone), a odczyt przeprowadzono przy użyciu czytnika ELx 800 firmy BIO-TEK Instruments Inc. Stężenie hsCRP metodą ultraczułą zostało zmierzone przy użyciu techniki immunonefelometrycznej (aparat Bering II Nephelometer; Dade-Behring, Marburg, Niemcy). Do oznaczenia stężenia fibrynogenu wykorzystano odczynnik Multifibren U (aparat Sysmex CA-500; Dade-Behring, Marburg, Niemcy).

Ocenę normalności rozkładu poszczególnych zmiennych badano za pomocą testu Kołmogorowa-Smirnowa z poprawką Lillieforsa. Analiza statystyczna obejmowała porównanie średnich przy użyciu testu t-Studenta dla parametrów o rozkładzie normalnym, natomiast dla pozostałych — za pomocą testu U Manna-Whitneya. Różnice między grupami badano za pomocą testu t-Studenta dla par powiązanych oraz testu Wilcoxona. Za istotne statystycznie uznano wyniki, dla których poziom istotności nie przekraczał  $p < 0,05$ . W analizie statystycznej wykorzystano program Statistica w wersji 8.0.

### Wyniki

#### Charakterystyka grupy chorych z nefropatią cukrzycową na początku badania

Badana populacja charakteryzowała się znaczną niewydolnością nerek, o różnym stopniu zaawansowania, co przejawiało się podwyższonym stężeniem

**Tabela 2. Wartości stężeń wybranych parametrów biochemicznych we krwi badanych chorych w odniesieniu do obowiązujących norm referencyjnych**

Badany parametr		Średnia $\pm$ SD	Mediana	Min.–maks.	Zakres wartości referencyjnych
Glukoza	[mmol/l]	7,27 $\pm$ 2,59	6,6	3,0–13,0	3,30–5,60
HbA <sub>1c</sub>	(%)	7,06 $\pm$ 1,38	6,8	5,0–11,1	< 7,0%
Kreatynina	[ $\mu$ mol/l]	170,4 $\pm$ 101,2	155,5	57,3–500	45,0–97,0
Mocznik	[mmol/l]	12,2 $\pm$ 5,3	11,1	5,3–26,0	1,7–8,3
Kwas moczowy	[ $\mu$ mol/l]	380,2 $\pm$ 77,2	374,0	77,2–631,0	202–416
Albuminuria	[mg/d.]	1113 $\pm$ 827	925	200–3400	0
Hb	[g/dl]	12,9 $\pm$ 1,8	12,75	10,0–17,3	11–17

**Tabela 3. Wyjściowe stężenie markerów zapalnych w badanej grupie chorych**

Badany parametr		Średnia $\pm$ SD	Mediana	Min.–maks.
Fibrynogen	[g/l]	4,06 $\pm$ 1,49	4,0	1,0–7,62
hsCRP	[mg/l]	3,19 $\pm$ 3,02	2,03	0,17–11,0
IL-6	[pg/ml]	3,09 $\pm$ 2,52	2,43	0,8–14,91
TGF-beta 1	[ng/ml]	82,01 $\pm$ 69,4	68,1	24,0–340,0
VEGF	[ng/ml]	177,2 $\pm$ 144,9	161,3	13,5–813,1
sTNF RII	[pg/ml]	4700 $\pm$ 2188	4435	1965–14 940
PDGF-BB	[pg/ml]	597,3 $\pm$ 422,4	510,6	32,7–1866,0

Objaśnienia skrótów w tekście

kreatyniny i mocznika we krwi u tych pacjentów (średnie stężenie kreatyniny — 170,4  $\mu$ mol/l; średnie stężenie mocznika — 12,2 mmol/l). Wskaźnik przesączania kłębuszkowego, wyliczony z obowiązującego 4-parametrowego wzoru MDRD, w badanej grupie wynosił średnio 44,18  $\pm$  25,17 ml/min. Wartościom tym towarzyszyła znaczna dobową albuminuria ze średnią wartością ponad 1000 mg/dobę. U chorych występował III–V stopień zaawansowania nefropatii cukrzycowej w skali Mogense-na. Średnie wartości glukozy na czczo i HbA<sub>1c</sub> przekraczały zakres norm wyrównania cukrzycy według Polskiego Towarzystwa Diabetologicznego (PTD) i wynosiły odpowiednio 7,27  $\pm$  2,59 mmol/l oraz 7,06  $\pm$  1,38%, przy wartościach maksymalnych odpowiednio 13,0 mmol/l i 11,1%. Świadczy to o stosunkowo słabym wyrównaniu cukrzycy w badanej grupie chorych i może wpływać na występowanie w tej grupie znacznej albuminurii. Średnia wartość ciśnienia tętniczego w badanej grupie wynosiła 141/74 mm Hg, mimo że większość chorych otrzymywała leki blokujące konwertazę angiotensyny lub jej receptor. Wartości omówionych parametrów przedstawiono w tabeli 2.

Średnie wartości hsCRP oraz fibrynogenu w badanej grupie były wyższe od wartości referencyjnych. Wartość sTNF RII wynosiła 4700  $\pm$  2188 pg/

/ml, przy zakresie wartości referencyjnych wynoszącym 1003–3170 pg/ml. Podobnie w przypadku PDGF-BB, wartość średniej znacznie przekraczała maksymalną wartość 129 pg/ml, podaną przez producenta jako charakterystyczną dla osób zdrowych. W przypadku pozostałych badanych parametrów (TGF-beta 1, VEGF) nie podano wartości referencyjnych, a jedynie minimalne wartości wykrywalności, które zostały znacznie przekroczone w badanej populacji. Wyniki przedstawiono w tabeli 3.

### Charakterystyka grupy chorych z nefropatią cukrzycową po 36 miesiącach obserwacji

Chorzy z nefropatią cukrzycową, którzy pozostali w badaniu po 3 latach obserwacji, charakteryzowali się wysokimi wartościami średnimi kreatyniny i mocznika. Średnia wartość eGFR u wszystkich chorych wynosiła 40,1  $\pm$  22,5 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>. Zaobserwowano także dużą rozpiętość w zakresie białkomoczu — od braku obecności białka w moczu do 2,5 g/dobę.

Stwierdzono istotne statystycznie obniżenie średnich wartości albuminurii oraz wzrost mocznika ( $p < 0,05$ ) u chorych po 36 miesiącach obserwacji. Wartość kreatyniny nieznacznie wzrosła w obserwowanej grupie, natomiast wyliczona wartość

**Tabela 4. Wybrane parametry kliniczne i biochemiczne: analiza różnic w grupie 25 chorych z nefropatią cukrzycową wyjściowo i po 36 miesiącach badania**

Badany parametr		Wyjściowo Średnia ± SD	Po 36 miesiącach Średnia ± SD	p
Skurczowe ciśnienie tętnicze	[mm Hg]	141 ± 16,9	139 ± 18	NS
Rozkurczowe ciśnienie tętnicze	[mm Hg]	73 ± 10,9	72,5 ± 10	NS
Glukoza	[mmol/l]	7,1 ± 2,7	6,2 ± 1,5	< 0,01
HbA <sub>1c</sub>	(%)	7,2 ± 1,5	6,6 ± 1,0	< 0,01
Wskaźnik przesączania kłębuszkowego	[ml/min]	42,7 ± 23,8	40 ± 22,5	NS
Kreatynina	[μmol/l]	157 ± 62	164,9 ± 56	NS
Mocznik	[mmol/l]	12,0 ± 4,7	13,7 ± 4,4	< 0,05
Albuminuria	[mg/d]	1240 ± 900	1030 ± 525	< 0,05

**Tabela 5. Korelacja wyników parametrów wydolności nerek u chorych z nefropatią cukrzycową z wybranymi wynikami badań biochemicznych oraz czynnikami zapalnymi i wzrostowymi na początku obserwacji**

Badany parametr	GFR		Albuminuria	
	r	p	r	p
<b>Parametry wydolności nerek</b>				
Kreatynina	-0,9	< 0,0000001	–	NS
Mocznik	-0,8	< 0,0000001	–	NS
<b>Parametry wyrównania cukrzycy i lipidogram</b>				
HbA <sub>1c</sub>	–	NS	0,4	0,01
<b>Czynniki zapalne i wzrostowe</b>				
Fibrynogen	–	NS	–	NS
hsCRP	–	NS	–	NS
IL-6	-0,3	0,01	–	NS
sTNF RII	-0,7	0,000001	–	NS
TGF-beta 1	–	NS	–	NS
VEGF	–	NS	–	NS
PDGF-BB	–	NS	–	NS

Objaśnienia skrótów w tekście

GFR nieznacznie się obniżyła (zmiany te nie były istotne statystycznie). Natomiast, co warto podkreślić, wyrównanie metaboliczne cukrzycy — mierzone wartością glikemii na czczo i HbA<sub>1c</sub> — było istotnie ( $p < 0,01$ ) lepsze u chorych po 36 miesiącach leczenia. Także wartości ciśnienia tętniczego nie różniły się istotnie statystycznie między badaniami wyjściowymi i po 36 miesiącach. Wyniki przedstawiono w tabeli 4.

#### **Związki między oznaczanymi parametrami w badanych grupach chorych**

W tabeli 5 przedstawiono związki między parametrami progresji niewydolności nerek a wybranymi wynikami badań biochemicznych oraz czynnikami prozapalnymi w badaniu wyjściowym. Wykazano istnienie związku między HbA<sub>1c</sub> a albuminurią ( $r =$

0,4;  $p = 0,01$ ). Stwierdzono ponadto, że zwiększenie stężenia takich czynników zapalnych, jak IL-6 i sTNF RII, wiąże się ze spadkiem wartości GFR (odpowiednio:  $r = -0,3$ ;  $p = 0,01$  oraz  $r = -0,7$ ;  $p < 0,0001$ ).

Po 36 miesiącach obserwacji badano zależność między parametrami oceny niewydolności nerek u chorych z nefropatią cukrzycową a wybranymi badaniami biochemicznymi i czynnikami zapalnymi i wzrostowymi. Wykazano istnienie zależności między wartościami wyrównania cukrzycy i albuminurią, odpowiednio dla stężenia glukozy  $r = 0,6$  i  $p = 0,01$ , dla HbA<sub>1c</sub>  $r = 0,7$  i  $p = 0,01$ . W zakresie czynników zapalnych i wzrostowych wykazano pozytywny związek stężenia hsCRP i sTNF RII i albuminurii (odpowiednio  $r = 0,5$ ;  $p = 0,008$  i  $r = 0,5$ ;  $p = 0,02$ ) oraz ujemny między VEGF a wartością GFR ( $r = -0,4$ ;  $p = 0,03$ ). Wyniki przedstawiono w tabeli 6.



**Tabela 6. Korelacja wyników parametrów wydolności nerek u chorych z nefropatią cukrzycową z wybranymi wynikami badań biochemicznych i antropometrycznych oraz czynnikami zapalnymi i wzrostowymi po 36 miesiącach obserwacji**

Badany parametr	GFR		Albuminuria	
	r	p	r	p
<b>Parametry wydolności nerek</b>				
Kreatynina	-0,8	0,00001	–	NS
Mocznik	-0,7	0,0002	–	NS
<b>Parametry wyrównania cukrzycy i lipidogram</b>				
Glukoza	–	NS	0,6	0,01
HbA <sub>1c</sub>	–	NS	0,7	0,01
<b>Czynniki zapalne</b>				
Fibrynogen	–	NS	–	NS
hsCRP	–	NS	0,5	0,008
IL-6	–	NS	–	NS
sTNF RII	–	NS	0,5	0,02
TGF-beta 1	–	NS	–	NS
VEGF	-0,4	0,03	–	NS
PDGF-BB	-0,4	0,07	–	NS

Objaśnienia skrótów w tekście

## Dyskusja

Ważnymi implikacjami praktycznymi wynikającymi z tego badania jest stwierdzenie istotnych związków między progresją nefropatii cukrzycowej a czynnikami zapalnymi. Uzyskane wyniki wskazują, że grupa pacjentów z nefropatią cukrzycową charakteryzuje się podwyższonym stężeniem markerów stanu zapalnego, czyli fibrynogenu, białka CRP, interleukiny 6 i receptora II TNF-alfa, w porównaniu z wartościami referencyjnymi. Uzyskane wyniki przyczyniają się do dyskusji na temat roli „mikrozapalenia” w patogenezie i progresji nefropatii cukrzycowej [12]. Dotychczas przyjmowano, że do uszkodzenia nerek w cukrzycy prowadzą, jak opisano we wstępie, zmiany metaboliczne i hemodynamiczne. Coraz więcej danych sugeruje jednak, że cytokiny zapalne, produkowane przez naciekające komórki, czy też komórki nerkowe uczestniczą w rozwoju cukrzycowej choroby nerek.

Interleukina 6 jest pleiotropową cytokiną, która wykazuje właściwości pro- i przeciwzapalne oraz występuje w surowicy zdrowych osób w stężeniu poniżej 1 pg/ml. Rolę IL-6 w patogenezie nefropatii cukrzycowej sugerowano w wielu innych badaniach — zarówno *in vivo*, jak i *in vitro* [13–16], chociaż nie wszyscy autorzy obserwowali związek jej stężenia w surowicy ze stopniem wydalania albumin z moczem [17, 18]. W niniejszej pracy także nie obserwowano powyższej zależności, chociaż w badaniu przekrojowym występował związek z GFR. Również stężenie sTNF RII bardzo silnie korelowało z warto-

ścią GFR. Wyniki te świadczą, że subkliniczny stan zapalny wiąże się z obniżeniem funkcji nerek u chorych na cukrzycę typu 2. Mimo to w powtórным badaniu, wykonanym po 36 miesiącach, nie wykazano związku między IL-6 i sTNF RII a przesączaniem kłębuszkowym.

Białko CRP jest białkiem ostrej fazy produkowanym w wątrobie, w odpowiedzi na działanie cytokin, takich jak TNF-alfa i, przede wszystkim, IL-6 [19]. Chociaż CRP jest niespecyficznym systemowym markerem reakcji zapalnej, aktywuje ono śródbłonek i ulega akumulacji w obrębie blaszki miażdżycowej, co sugeruje istotną rolę w lokalnym procesie zapalnym, toczącym się w naczyniu [20]. Pacjenci z cukrzycą i nefropatią cechowali się także podwyższonym stężeniem białka CRP oznaczanego metodą ultraczulą. Białko CRP i sTNF RII korelowały bardzo istotnie (CRP —  $p = 0,008$ ) z albuminurią po 36 miesiącach obserwacji, co stanowi kolejny dowód potwierdzający związki tych markerów z nefropatią. Dalla Vestra i wsp. wykazali u pacjentów z jawną nefropatią w przebiegu cukrzycy typu 2 podwyższone stężenia różnych białek ostrej fazy, łącznie z białkiem CRP, SAA, fibrynogenem i interleukiną 6, co znalazło potwierdzenie również w wynikach autorów niniejszej pracy [21].

Ponadto w analizie korelacji jednoczynnikowej stwierdzono istnienie ujemnej korelacji między VEGF a GFR. Być może stymulacja sekrecji VEGF przez podocyty może wpływać na przepływ krwi i funkcję komórek śródbłonna kłębuszka, a także ma inne

działania autokrynne zmieniające właściwości błony podstawnej kłębuszka [22, 23].

U chorych na cukrzycę obserwowano wzrost TGF- $\beta$  1 w nerkach, a także w moczu [24, 25]. W badaniach autorów niniejszej pracy nie obserwowano zmian stężenia TGF- $\beta$  1 w surowicy, a w moczu nie wykonywano oznaczeń. W cytowanych badaniach zmiany TGF- $\beta$  1 zależały od glikemii i stosowania leków blokujących oś renina–angiotensyna–aldosteron [26, 27]. Związki między TGF- $\beta$  1 i VEGF a nefropatią cukrzycową nie są jednoznaczne, dlatego strategie terapeutyczne, których celem jest wpływ na te czynniki, powinny uwzględniać możliwe efekty niepożądane zahamowania działania przeciwzapalnego TGF- $\beta$  czy upośledzenia prawidłowej angiogenezy przy terapii przeciw VEGF.

W ostatnich latach bardzo wiele uwagi poświęcono roli procesów zapalnych. W niniejszej pracy potwierdzono związek tych nowych mechanizmów z klasycznymi czynnikami ryzyka rozwoju nefropatii cukrzycowej. Dokładne poznanie związków między nowymi czynnikami a stopniem zaburzeń metabolicznych i powikłań narządowych może mieć również implikacje terapeutyczne oraz umożliwić skuteczniejszą profilaktykę nefropatii cukrzycowej.

## Wnioski

W niniejszej pracy wykazano, że:

- u chorych z nefropatią cukrzycową, w stosunku do wartości referencyjnych, występuje istotnie wyższe stężenie markerów zapalnych;
- w badaniu prospektywnym zmiany markerów zapalnych wiążą się z progresją nefropatii, czyli obniżeniem GFR i wzrostem albuminurii.

## PIŚMIENNICTWO

1. Janeczko D. Epidemiologia cukrzycy typu 2. W: Sieradzki J. (red.). Cukrzyca. Tom 1. Via Medica, Gdańsk 2006; 170–215.
2. Rutkowski B., Lichodziejewska-Niemierko M., Grenda R. i wsp. Raport o stanie leczenia nerkozastępczego w Polsce — 2007. Gdańsk 2009: 15–17.
3. Diabetes Control and Complications Trial (DCCT). The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N. Engl. J. Med.* 1993; 329: 977–986.
4. United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS). Effect of intensive blood glucose control with metformin on complications in overweight patient with type 2 diabetes. *Lancet* 1998; 352: 854–865.
5. Taguchi T. The biochemical mechanisms of diabetic tissue damage. W: Pickup J.C., Williams G. (red.). Textbook of diabetes. Blackwell Publ. Ltd, Oxford 2005.
6. Iwano M. Quantification of glomerular  $\beta$  1 m-RNA in patients with diabetes mellitus. *Kidney Int.* 1996; 649: 1120–1126.
7. Sharma K., Ziyadeh B., Alzahabi T.A. Increased renal production of TGF  $\beta$  1 in patients with type II diabetes. *Diabetes* 1997; 46: 854–859.
8. Mogyrosi A., Kapoor M., Isono S. i wsp. Utility of serum and urinary transforming growth factor- $\beta$  levels as markers of diabetic nephropathy. *Nephron* 2000; 86: 234–235.
9. Ban C., Twigg S. Fibrosis in diabetes complications: pathogenic mechanisms and circulating and urinary markers. *Vasc. Health and Risk Managm.* 2008; 4: 575–596.
10. Iglesias de la Cruz M.C., Ziyadeh M., Isono M. i wsp. Effects of high glucose and TGF- $\beta$  1 on the expression of collagen IV and endothelial growth factor in mouse podocytes. *Kidney Int.* 2002; 62: 901–913.
11. Chen S., Kasama J.S., Lee J.S. i wsp. Podocyte-driven vascular endothelial growth factor mediates the stimulation of  $\alpha$ 3(IV) collagen production by transforming growth factor  $\beta$  1 in mouse podocytes. *Diabetes* 2004; 53: 2939–2949.
12. Maeda S. Do inflammatory cytokine genes confer susceptibility to diabetic nephropathy. *Kidney Int.* 2008; 74: 413–415.
13. Suzuki D., Miyazaki M., Naka R. i wsp. In situ hybridization of interleukin 6 in diabetic nephropathy. *Diabetes* 1995; 44: 1233–1238.
14. Shikano M., Sobajima H., Yoshikawa H. i wsp. Usefulness of highly sensitive urinary and serum IL-6 assay in patients with diabetic nephropathy. *Nephron* 2000; 85: 81–85.
15. Ruef C., Kashgrarian M., Coleman D.L. i wsp. Mesangial cell-matrix interactions: effects on mesangial cell growth factor and cytokine secretion. *Am. J. Pathol.* 1992; 141: 429–439.
16. Stephens J.W., Hurel S.J., Acharya J. i wsp. An interaction between the interleukin-6 — 174G>C gene variant and urinary protein excretion influences plasma oxidative stress in subject with type 2 diabetes. *Cardiovasc. Diabetol.* 2004; 3: 2–6.
17. Nakamura A., Shikata K., Hiramatsu M. i wsp. Serum interleukin-18 levels are associated with nephropathy and atherosclerosis in Japanese patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2005; 28: 2890–2895.
18. Moriwaki Y., Yamamoto T., Shibutani Y. i wsp. Elevated levels of interleukin-18 and tumor necrosis factor- $\alpha$  in serum of patients with type 2 diabetes; relationship with diabetic nephropathy. *Metabolism* 2003; 52: 605–608.
19. Jialal I., Devaraj S. Inflammation and atherosclerosis: the value of the high-sensitivity C-reactive protein assay as a risk marker. *Am. J. Clin. Pathol.* 2001; 116 (supl.): S108–S115.
20. Paseri V.W.J., Yeh E.T. Direct proinflammatory effect of C-reactive protein on human endothelial cells. *Circulation* 2000; 102: 2165–2168.
21. Dalla Vestra M., Mussap M., Gallina P. i wsp. Acute-phase markers of inflammation and glomerular structure in patients with type 2 diabetes. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2005; 16: 578–582.
22. Iglesias de la Cruz M.C., Ziyadeh M., Isono M. i wsp. Effects of high glucose and TGF- $\beta$  1 on the expression of collagen IV and endothelial growth factor in mouse podocytes. *Kidney Int.* 2002; 62: 901–913.
23. Chen S., Kasama J.S., Lee J.S. i wsp. Podocyte-driven vascular endothelial growth factor mediates the stimulation of  $\alpha$ 3(IV) collagen production by transforming growth factor  $\beta$  1 in mouse podocytes. *Diabetes* 2004; 53: 2939–2949.
24. Sharma K., Ziyadeh B., Alzahabi T.A. Increased renal production of TGF  $\beta$  1 in patients with type II diabetes. *Diabetes* 1997; 46: 854–859.
25. Mogyrosi A., Kapoor M., Isono S. i wsp. Utility of serum and urinary transforming growth factor- $\beta$  levels as markers of diabetic nephropathy. *Nephron* 2000; 86: 234–235.
26. Sharma K., Eltayeb B.O., McGown T. i wsp. Captopril induced reduction of serum levels of TGF  $\beta$  1 correlates with long term renoprotection in insulin dependent diabetic patients. *Am. J. Kidney Dis.* 1999; 34: 818–823.
27. Agarwal R., Siva S.R., Dunn K. i wsp. Add-on angiotensin II receptor blockade lowers urinary TGF  $\beta$  1 levels. *Am. J. Kidney Dis.* 2002; 39: 486–492.